

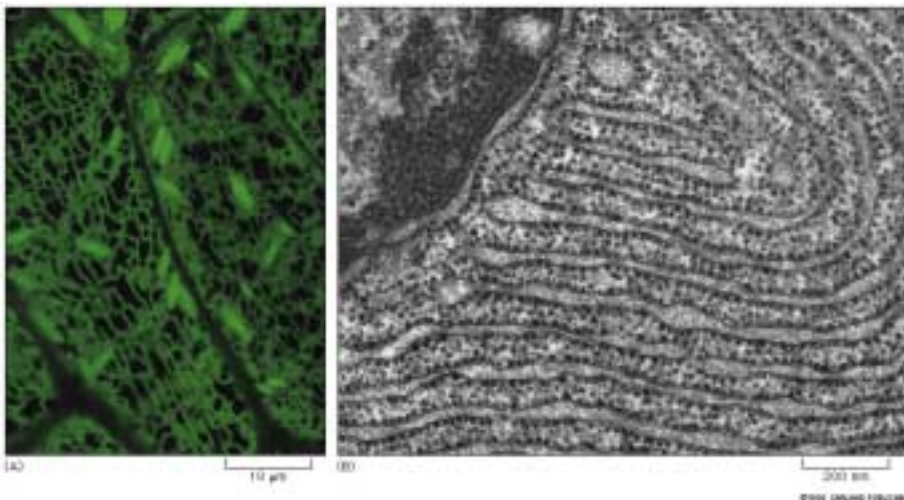
Η κυτταρική μετατόπιση των πρωτεϊνών

Εισαγωγή

Στο κύτταρο η έκφραση των πρωτεϊνών γίνεται από μόνο ένα τύπο ριβοσώματος (εκτός των μιτοχονδριακών και των χλωροπλαστικών που μοιάζουν με αυτά των προκαρυωτικών οργανισμών και έχουν τοπική δράση) που βρίσκεται στο κυτόπλασμα. Το ποια πρωτεΐνη συντίθεται είναι αποτέλεσμα του mRNA που μεταφράζεται κάθε χρονική στιγμή. Όμως η κάθε πρωτεΐνη του συντίθεται στο κυτόπλασμα έχει ένα διαφορετικό προορισμό. Κάποιες είναι κυτοπλασματικές αλλά άλλες είτε είναι μεμβρανικές και έχουν προορισμό την κυτταρική μεμβράνη ενώ άλλες είναι εξωκυττάρια και πρέπει να διασχίσουν την κυτταρική μεμβράνη. Έτσι οι πρωτεΐνες του πλάσματος αίματος παράγονται στα κύτταρα του ήπατος όμως έχουν προορισμό τα αιμοσφαίρια, οι εξωκυττάρια ινσουλίνη και πεπτικά ένζυμα παράγονται στα κύτταρα του παγκρέατος αλλά έχουν άλλους προορισμούς. Οι περισσότερες μιτοχονδριακές πρωτεΐνες συντίθενται στο κυτόπλασμα και επιλεκτικά μεταφέρονται στα μιτοχόνδρια. Η μεταφορά των νεοσυντιθεμένων πρωτεϊνών γίνεται με διαφορετικούς τρόπους ο κυριότερος των οποίων είναι μέσω του **ενδοπλασματικού δικτύου** (endoplasmic reticulum ή ER) (εικ.9.1).

9.1. Η λειτουργία του ενδοπλασματικού δικτύου.

Το ενδοπλασματικό δίκτυο είναι ένα πολύπλοκο δίκτυο μεμβρανών στο εσωτερικό των κυττάρων που σχηματίζει κλειστούς πεπλεγμένους θύλακες. Το κυτόπλασμα βρίσκεται εκτός του ER. Στο ένα τμήμα του ER εξωτερικά βρίσκονται επικολλημένα πολλά ριβοσώματα δίνοντας στην μεμβράνη μία ανώμαλη εμφάνιση ενώ το υπόλοιπο ER δεν έχει ριβοσώματα δίνοντας στην μεμβράνη μία λεία εμφάνιση (εικ.9.1).



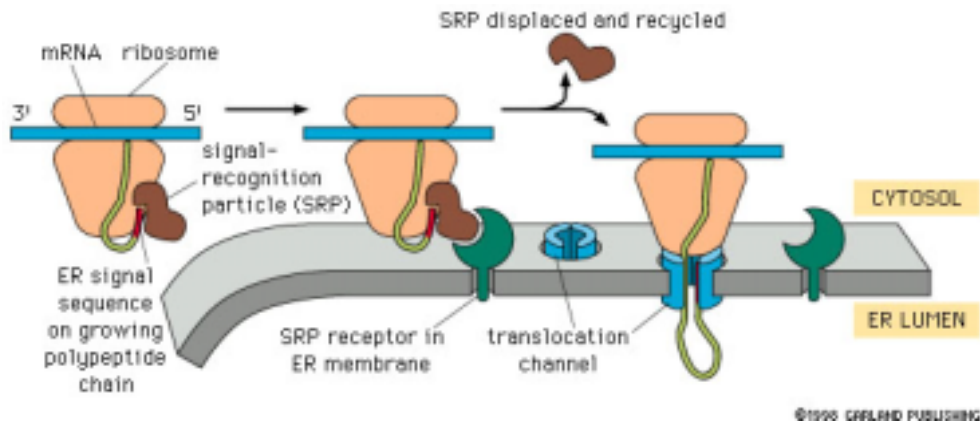
Εικόνα 9.1. Το ενδοπλασματικό δίκτυο (ER).

Οι πρωτεΐνες που δεν έχουν προορισμό το κυτόπλασμα μεταφέρονται πρώτα στο ER και μετά στον προορισμό τους. Πώς όμως διαχέονται οι πρωτεΐνες διαμέσου της μεμβράνης του ER. Οι πρωτεΐνες που έχουν προορισμό είτε το εξωτερικό του κυττάρου ή τις κοιλότητες του ενδοπλασματικού δικτύου έχουν στο αμινοτελικό άκρο τους μία **αμινοξική ακολουθία οδηγό** μήκους 25 +/- 11 αμινοξέα. Η ακολουθία οδηγός ακολουθεί ένα καθορισμένο πρότυπο χωρίς όμως να είναι απόλυτα καθορισμένη (Πιν.1) . Αυτή διαδοχικά συνοδεύεται από μία ακολουθία διάσπασης που αναγνωρίζεται από πρωτεολυτικά ένζυμα αμέσως πριν την ακολουθία της πρωτεΐνης.

Πίνακας 9.1. Τυπικές οδηγού ακολουθίες

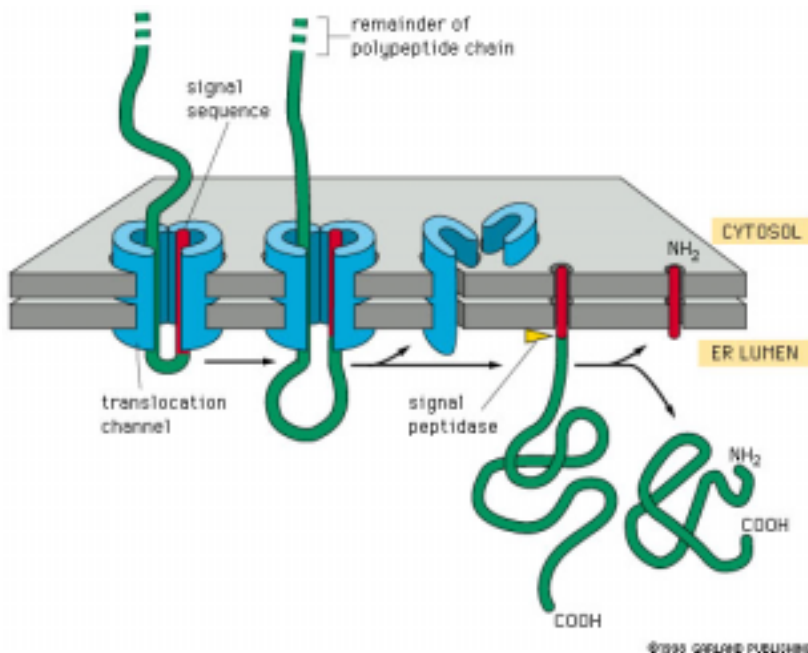
<u>Τύπος σήματος</u>	<u>Παράδειγμα οδηγού ακολουθίας</u>
Εισαγωγή στο ER	⁺ H ₃ N-Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser- Leu-Leu-Leu-Val-Gly-Ile-Leu-Phe-Trp-Ala-Thr-Glu-Ala-Glu -Gln-Leu-Thr- Lys -Cys- Glu -Val-Phe-Gln-
Παρακράτηση στην κοιλότητα του ER	- Lys-Asp-Glu -Leu-COO ⁻
Εισαγωγή στα μιτοχόνδρια	⁺ H ₃ N-Met-Leu-Ser-Leu- Arg -Gln-Ser-Ile- Arg -Phe-Phe- Lys -Pro-Ala-Thr- Arg -Thr-Leu-Cys-Ser-Ser- Arg -Tyr-Leu-Leu-
Εισαγωγή στο πυρήνα	-Pro-Pro- Lys-Lys-Lys-Arg-Lys -Val-
Εισαγωγή σε περοξισώματα	-Ser- Lys -Leu-

Επειδή η ακολουθία οδηγός βρίσκεται στο αμινοτελικό άκρο συντίθεται πρώτη από το ριβόσωμα. Αμέσως αυτή η ακολουθία αναγνωρίζεται από ένα σύμπλεγμα RNA-πρωτεΐνης, που λέγεται **σωματίδιο αναγνώρισης σήματος** ή **SRP** (signal recognition particle), δεσμεύει το νεοπαραχθέν ολιγοπεπτίδιο και σταματά την μετάφραση. Στην μεμβράνη του ER υπάρχουν υποδοχείς του SRP όπου το σύμπλεγμα ριβοσώματος-SRP προσκολλάται. Με μία σειρά βημάτων όπου ένα μόριο GTP υδρολύεται σε GDP, το ριβόσωμα προσκολλάται σε πρωτεΐνες της μεμβράνης του ER που σχηματίζουν **τον μεταφορικό πόρο του πολυπεπτιδίου** ενώ το SRP απελευθερώνεται και πάλι στο κυτόπλασμα (εικ.9.2).



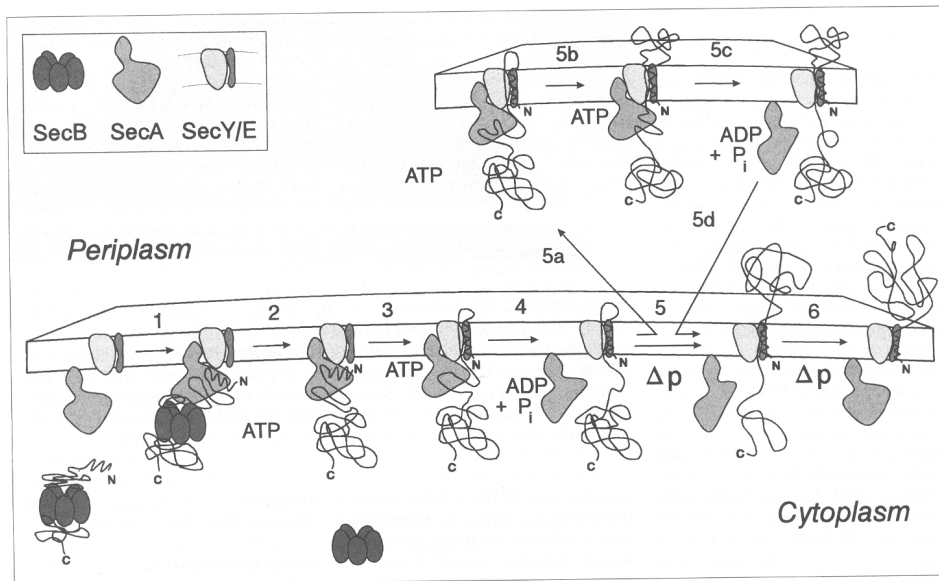
Εικόνα 9.2. Η πρόσδεση της νεοσυσταθείσας πρωτεΐνης στο translocon.

Με την απελευθέρωση του SRP η μετάφραση του πολυπεπτιδίου συνεχίζεται για μέσου του μεταφορικού πόρου με την ακολουθία οδηγό προσδεμένη στον πόρο. Μία πεπτιδάση που αναγνωρίζει την ακολουθία οδηγό (πεπτιδάση σήματος) υδρολύει την ακολουθία αυτή απελευθερώνοντας το πολυπεπτίδιο στις κοιλότητες του ενδοπλασματικού δικτύου όπου θα ακολουθήσει το δίπλωμα (εικ.9.3).



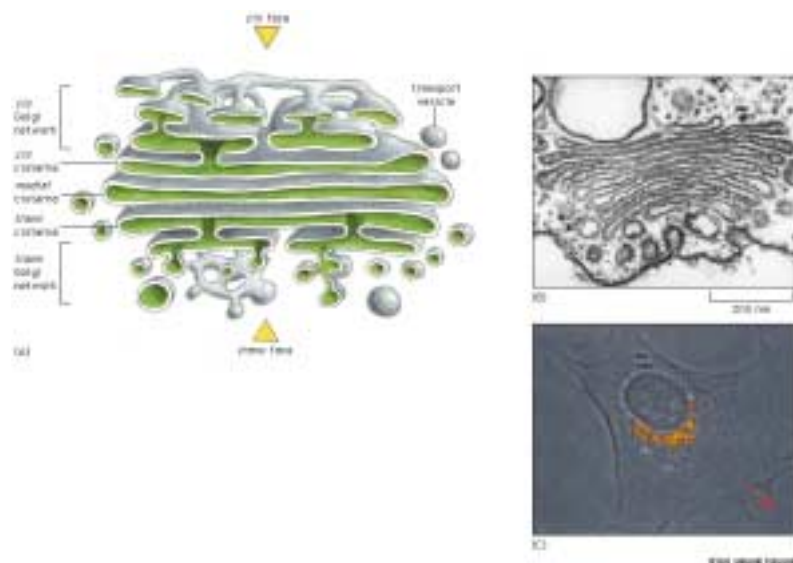
Εικόνα 9.3. Η διεργασία μεταφοράς σφαιρικής πρωτεΐνης από την κυτταρική μεμβράνη.

Δεν είναι απόλυτα κατανοητό τι οδηγεί την πολυπεπτιδική ακολουθία διαμέσου του πόρου.



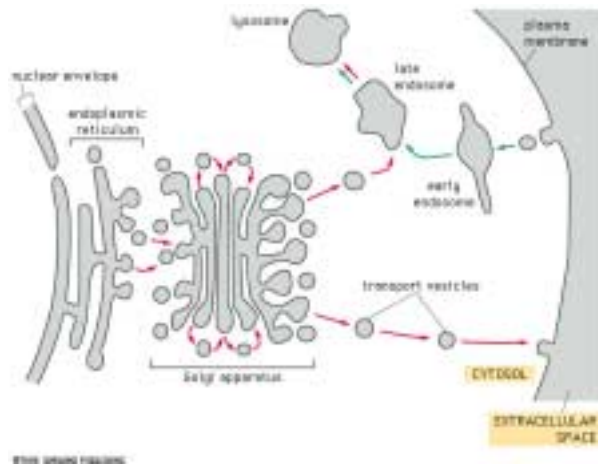
Εικόνα 9.4. Η διεργασία μεταφοράς σφαιρικής πρωτεΐνης από την κυτταρική μεμβράνη με τις ενεργειακές συμμετοχές.

Το ER είναι ένας κλειστός σάκος χωρίς εξόδους. Οι πρωτεΐνες στις κοιλότητες του ER εισάγονται σε μεταφορικά κυστίδια και μεταφέρονται σε ένα άλλο οργανίδιο, στο σύμπλοκο Golgi (εικ.9.5) μετά την σύμπτυξη των κυστιδίων με την μεμβράνη του (εικ.9.6).



Εικόνα 9.5. Το οργανίδιο Golgi.

Η δομή του οργανιδίου Golgi είναι απλή. Περίπου έξη επίπεδοι μεμβρανοί σάκοι χωρίς εισόδους ή εξόδους. Λαμβάνει πρωτεΐνες από το ER μέσω μεταφορικών κυστιδίων και στέλνει πρωτεΐνες στον προορισμό τους δημιουργώντας πάλι κυστίδια. Ένα μόνον μέρος των πρωτεϊνών που λαμβάνει από το ER εκκρίνονται και πάλι. Ένα άλλο μέρος εισάγονται σε λυσοσώματα και περοξισώματα. Μερικές πρωτεΐνες όπως η ισομεράση του δισουλφιδίου και τα ένζυμα γλυκοσυλίωσης επιστρέφονται στο ER.



Εικόνα 9.6. Η μεταφορά πρωτεϊνών δια μέσου του οργανιδίου Golgi.

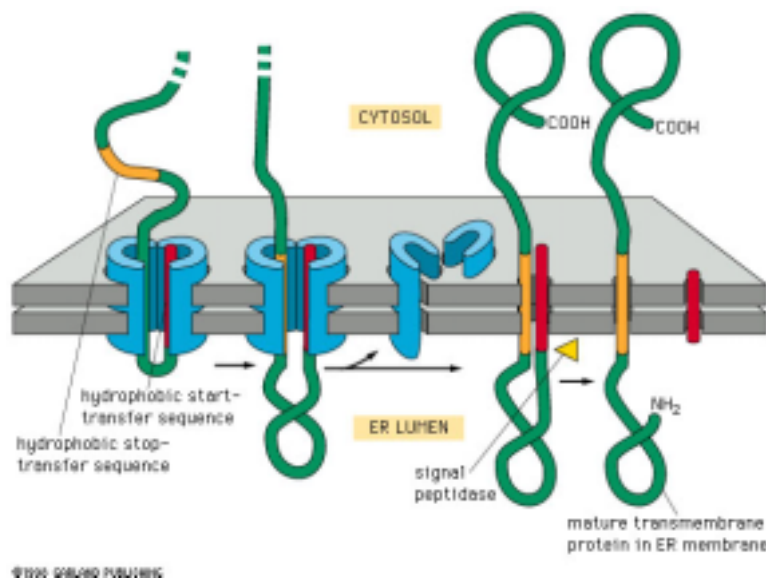
Το οργανίδιο Golgi εκκρίνει τις πρωτεΐνες αφού πρώτα τις ενσωματώσει σε κυστίδια που μετατοπίζονται προς την εξωκυττάρια μεμβράνη (εικ.9.6). Υπάρχουν δύο τύποι έκκρισης. Στον πρώτο οι πρωτεΐνες απελευθερώνονται συνεχώς όπως παράγονται. Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν οι πρωτεΐνες του πλάσματος που απελευθερώνονται από το ήπαρ χωρίς άλλη διέγερση. Σε αυτή τη διαδικασία τα κυστίδια ενσωματώνονται με την κυτταρική μεμβράνη απελευθερώνοντας το πρωτεϊνικό τους φορτίο. Στη δεύτερη, όπως στην περίπτωση των πεπτικών ενζύμων στο πάγκρεας, η απελευθέρωση των ενζύμων γίνεται μόνον όταν υπάρχει τροφή για πέψη. Σε αυτή την περίπτωση τα κυστίδια από το Golgi είναι μεγαλύτερα και αποθηκεύουν τα ένζυμα μέχρι να δημιουργηθεί κάποια διέγερση, ορμονική ή νευρική οπότε με εξωκύτωση γίνεται η απελευθέρωση των ενζύμων.

9.2. Αναγνώριση του στόχου και σηματοδότες προορισμού.

Τα κυστίδια μπορούν και αναγνωρίζουν συγκεκριμένες μεμβρανικές περιοχές διαμέσου πρωτεϊνών αναγνώρισης που βρίσκονται στην επιφάνεια τους. Ο μηχανισμός διαχωρισμού των πρωτεϊνών στο Golgi εμπλέκει υποδοχείς που αναγνωρίζουν συγκεκριμένες ακολουθίες των πρωτεϊνών που θα διαχωριστούν. Για την περίπτωση των πρωτεϊνών που θα επιστρέψουν στο ER η πεπτιδική ακολουθία σήμα είναι το τετραπεπτιδίο Λυσίνη-Ασπαρτικό-Γλουταμικό-Λευκίνη ή KDEL από τα αρχικά των αμινοξέων.

Στην περίπτωση των ενζύμων με προορισμό τα λυσοσώματα το σήμα προορισμού βρίσκεται στο πολυσακχαρίτη της γλυκοπρωτεΐνης. Τα γλυκοσυλιωμένα ένζυμα με προορισμό λυσοσώματα αναγνωρίζονται από ένα σύστημα ενζύμων στο Golgi και το σάκχαρο μανόζη φωσφορυλιώνεται. Το φωσφορυλιωμένο σάκχαρο προσδένεται σε εσωτερικούς υποδοχείς του Golgi και το ένζυμο ενσωματώνεται στο εσωτερικό του κυστιδίου (εικ.9.6).

Οι μεμβρανικές πρωτεΐνες επίσης συντίθενται στο ER τοποθετούνται στην μεμβράνη του ER μεταφέρονται στο Golgi σε κυστίδια και κατόπιν στην κυτταρική μεμβράνη. Η διαφορά από τις σφαιρικές πρωτεΐνες είναι πώς ενώ στις πρώτες το πολυπεπτιδίο διέρχεται δια μέσου του πόρου από την άλλη πλευρά της μεμβράνης στην περίπτωση των μεμβρανικών προσαρτάται σε αυτήν (εικ.9.7,9.8).

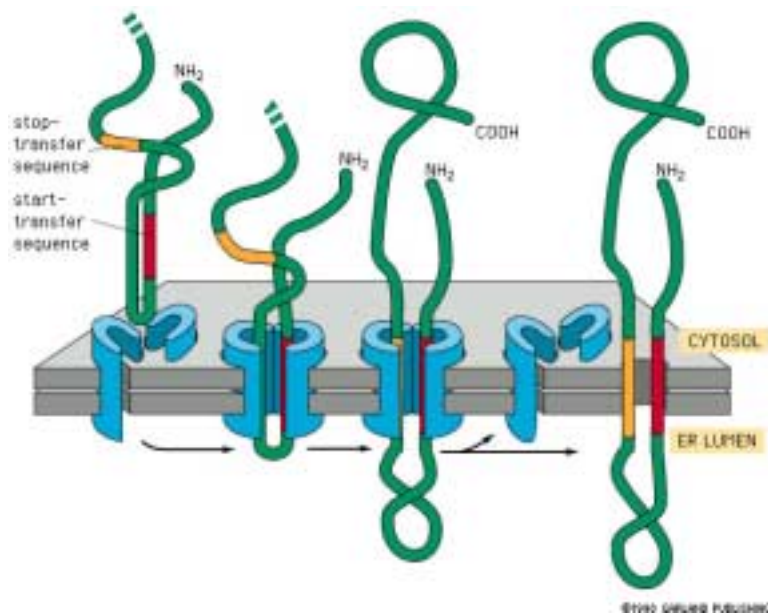


Εικόνα 9.7. Η ενσωμάτωση ιδιοσυστατικών μεμβρανικών πρωτεϊνών με ένα διαμεμβρανικό τμήμα στην κυτταρική μεμβράνη.

Όλη η απαραίτητη πληροφορία που ορίζει αν και πώς η πολυπεπτιδική αλυσίδα θα ενσωματωθεί στην μεμβράνη περιέχεται στην αμινοξική ακολουθία. Η απλούστερη περίπτωση είναι αυτή που περιέχεται στο πολυπεπτιδίο μία ακολουθία διακοπής της μεταφοράς (stop transfer) ή ακολουθία πρόσδεσης. Αυτή προσκολλάται στο εσωτερικό στο υδρόφοβο εσωτερικό της διλιπιδικής στοιβάδας και σταματά κάθε

περαιτέρω μεταφορά. Το ριβόσωμα κατόπιν ολοκληρώνει την μετάφραση/σύνθεση του καρβοξυλοτελικού άκρου από την άλλη πλευρά της μεμβράνης (εικ.9.7).

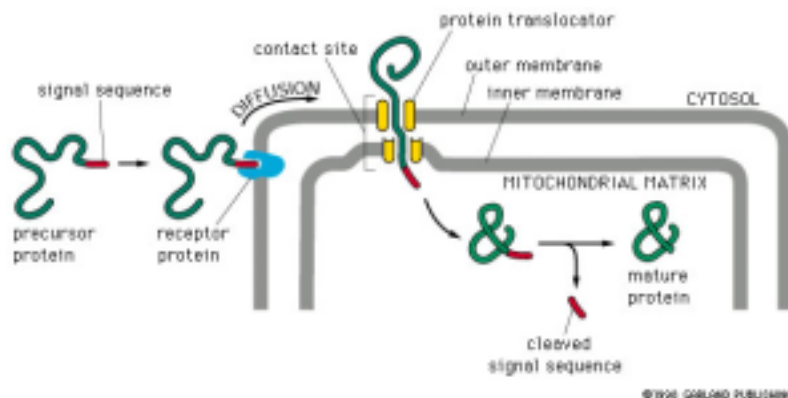
Στην περίπτωση μεμβρανικών πρωτεϊνών με περισσότερα του ενός διαμεμβρανικά τμήματα η ακολουθία οδηγός δεν προηγείται του αμινοτελικού άκρου του πολυπεπτιδίου αλλά βρίσκεται ενσωματωμένη σε αυτό (εικ.9.8).



Εικόνα 9.8. Η ενσωμάτωση ιδιосуστατικών μεμβρανικών πρωτεϊνών με περισσότερα του ενός διαμεμβρανικά τμήματα στην κυτταρική μεμβράνη.

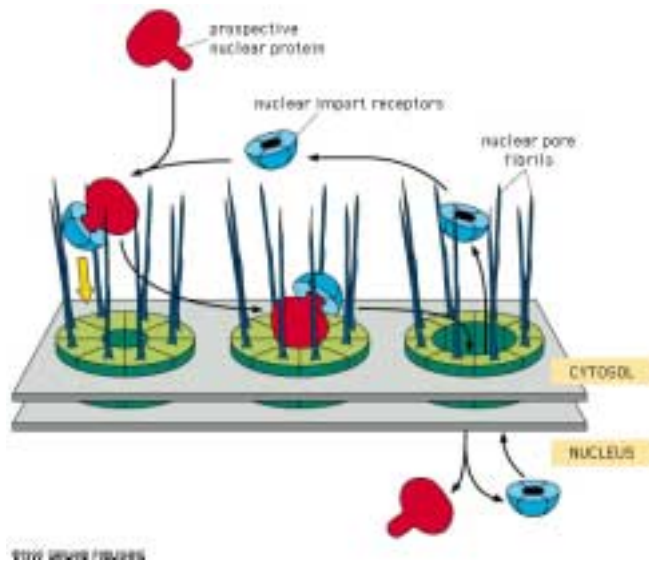
9.3. Μετάθεση των πρωτεϊνών στα μιτοχόνδρια, τους χλωροπλάστες και στο πυρήνα.

Στα ευκαρυωτικά κύτταρα υπάρχει ένας τελείως διαφορετικός τρόπος μετάθεσης των πρωτεϊνών στα μιτοχόνδρια ή χλωροπλάστες. Το μιτοχόνδριο παρ' ότι έχει το δικό του γενετικό υλικό και μηχανισμούς μετάφρασης εισάγει το 95% των πρωτεϊνών από το κυτόπλασμα. Οι μιτοχονδριακές αυτές πρωτεΐνες, που κωδικοποιούνται από το πυρήνα, παράγονται στο κυτόπλασμα από ελεύθερα ριβοσώματα στην μορφή των ανενεργών προ-πρωτεϊνών. Όπως αναδύεται το πολυπεπτίδιο από το ριβόσωμα μοριακοί ακόλουθοι προσδένονται που το κρατούν σε αποδιατεταγμένη μορφή. Η πρωτεΐνη διασχίζει την μιτοχονδριακή μεμβράνη σε αυτή την μορφή και λαμβάνει την στερεοδομή της με την βοήθεια άλλων μοριακών ακολούθων στο εσωτερικό του μιτοχονδρίου.



Εικόνα 9.9. Η μεταφορά πρωτεϊνών στο μιτοχόνδριο.

Η μιτοχονδριακή αμινοξική ακολουθία οδηγός είναι 12-70 αμινοξέα. Οι ακολουθίες αυτές διαφέρουν από πρωτεΐνη σε πρωτεΐνη αλλά όλες έχουν μία κοινή στερεοδομή που είναι μία αμφιπαθική α-έλικα με την μία πλευρά της θετικά φορτισμένη και την άλλη κυρίως υδρόφοβη. Αυτή προσδένεται στους υποδοχείς της εξωτερικής μεμβράνης του μιτοχονδρίου. Στην απλούστερη περίπτωση η ακολουθία οδηγός σύρει την πολυπεπτιδική αλυσίδα για μέσω πόρου της μιτοχονδριακής μεμβράνης και μετά αποκόπτεται (εικ.9.9). Εάν ο προορισμός της πρωτεΐνης είναι διαμεμβρανική θέση τότε η προ-πρωτεΐνη έχει δύο ακολουθίες οδηγούς. Η πρώτη την οδηγεί στο μιτοχονδριακό ενδόπλασμα και αποκόπτεται. Η αποκοπή αυτή προβάλλει την δεύτερη που οδηγεί το πολυπεπτίδιο πίσω διαμέσου της μιτοχονδριακής μεμβράνης στο μεσομεμβρανικό διάστημα. Τότε και η δεύτερη ακολουθία οδηγός αποκόπτεται.



Εικόνα 9.10. Η μεταφορά πρωτεϊνών στο κυτταρικό πυρήνα.

Ο πυρήνας ενός κυττάρου περιβάλλεται από διπλή πυρηνική μεμβράνη. Οι πρωτεΐνες που παράγονται στο κυτόπλασμα μετατίθενται στο πυρήνα δια μέσω ειδικών πόρων (εικ.9.10). Και σε αυτή την περίπτωση ένα ολιγοπεπτίδιο είναι η ακολουθία οδηγός που υποβοηθά την πρωτεΐνη να περάσει διαμέσου του μεμβρανικού πόρου. Οι μικρές ιστόνες δεν έχουν τέτοια ακολουθία ενώ στους μεταγραφικούς παράγοντες η ακολουθία σήματος ενσωματώνεται στην πολυπεπτιδική αλυσίδα της πρωτεΐνης.